

主論文の要旨

Chronic Peripheral Administration of Kappa-Opioid  
Receptor Antagonist Advances Puberty Onset  
Associated with Acceleration of Pulsatile Luteinizing  
Hormone Secretion in Female Rats

カッパオピオイド受容体アンタゴニストの持続末梢投与  
はパルス状黄体形成ホルモン分泌の増加を伴って  
雌ラットの性成熟開始時期を早める

名古屋大学大学院医学系研究科 健康社会医学専攻  
発育・加齢医学講座 産婦人科学分野  
(指導：吉川 史隆 教授)

中原 辰夫

## 【緒言】

近年、ニューロキニン B (NKB) およびダイノルフィン (Dyn) がさまざまな動物種において視床下部弓状核キスペプチンニューロンに共発現していることが報告され、KNDy ニューロンと呼ばれるようになった。また、KNDy ニューロンがゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) パルスジェネレーターとして機能する可能性が示唆されている。

哺乳類においては、GnRH 分泌頻度の上昇によって性成熟のタイミングが決められる。げっ歯類を用いたこれまでの研究により、視床下部弓状核におけるキスペプチンと NKB の 2 つの神経ペプチドの発現が性成熟に伴って増加することが報告されている。また、性成熟前のキスペプチンの中枢投与が雌ラットの性成熟の時期を早めるとする報告がある。一方、ラットの NKB 受容体であるニューロキニン 3 受容体 (NK3R) のアンタゴニストである SB222200 を中枢投与しても性成熟の開始時期に影響はなかったとする報告がある。

Dyn は内因性オピオイドペプチドの 1 つで、視床下部弓状核においてキスペプチン、NKB とともに共発現していることがマウス、ラット、ヤギ、ヒツジなどの動物種で確認されており、近年 KNDy ニューロンにおいて Dyn が抑制的に、NKB が促進的に働くことによって GnRH/LH のパルス状分泌がなされていることが推測されている。しかしながら、Dyn-κ オピオイド受容体 (KOR) シグナルが、性成熟に伴うパルス状 GnRH/LH 分泌にどの程度関与しているかは明らかにされていない。

以上の背景から、Dyn 受容体アンタゴニストと NKB 受容体アゴニストの持続末梢投与が雌ラットの性成熟に与える影響を解析した。

## 【方法】

すべての実験操作は動物実験取扱規程に沿っておこなった。8-9 週齢の雌 Wistar-Imamichi ラットを、発情前期の膣スメアを確認した日の夕方から雄ラットと同居させ、翌朝膣栓を確認して交配を確認した。その後妊娠雌ラットは 1 個体ずつ収容し、自然分娩させた。

新生仔は、生後 1 日 (分娩日を生後 0 日とする) に性別を検査し、同腹仔数を雌雄各 4 匹に調整し、生後 20 日齢に離乳させた。離乳後は雌 2 匹ずつを収容した。離乳後、生後 20 日齢の雌ラットに ALZET 浸透圧ポンプ (model 2002) を麻酔下で腹腔内に留置して薬剤の投与を開始した。Senktide 投与量はヤギにおける senktide 持続末梢投与に関する報告をもとに設定した。Nor-BNI の投与濃度は senktide と同モル濃度とした。GnRH/LH 分泌異常を伴う疾患への治療に応用できる可能性を考慮して、薬剤は末梢投与とした。浸透圧ポンプ留置後、生後 20 日齢から毎日体重測定および膣開口を性成熟の指標として観察をおこなった。膣開口後は毎日膣垢を採取し、性周期を観察した。生後 28 日齢時に麻酔下で頸静脈カテーテル留置をおこない、翌 29 日齢時に無麻酔・無拘束下で 3 時間、6 分間隔の連続採血をおこない、LH 濃度の測定をおこなった。連続採血後は麻酔下で採血し、子宮と卵巣を摘出し、重量測定した。

## 【結果】

Nor-BNI 投与群では 50% の個体が 29 日齢で膣開口したのに対して、対照群では 29 日齢の時点で膣開口した個体を認めなかった (Fig. 1A)。さら

に、nor-BNI 投与群ではすべての個体で 37 日齢までに初回発情を示したのに対して、対照群では 37 日齢までに初回発情を示した個体が認められなかった (Fig. 1B)。膣開口時期および初回発情時期は、nor-BNI 投与群で対照群より有意に早まった (Fig. 1C and 1D)。

離乳後からの体重は、対照群、nor-BNI 投与群、senktide 投与群のいずれも順調に増加し、薬剤投与の影響は認められなかった (Fig. 2A)。膣開口の時期および初回発情の時期における各個体の体重は、対照群と比較して nor-BNI 投与群では有意に低かった (Fig. 2A and 2B)。

Senktide 投与群では 37 日齢までに 50%の個体で初回発情を示したのに対して、対照群では 37 日齢までに初回発情を示した個体が認められなかった。Senktide 投与群では対照群と比較して初回発情時期は有意に早く、初回発情の時期における体重は有意に低かったが、膣開口の時期については Senktide 投与群と対照群との間で有意差は認められなかった (Fig. 1B, 1D and 2C)。

これらのデータを踏まえ 29 日齢において、各治療群での LH 分泌を解析した。Nor-BNI 投与群の 5 頭すべての個体で、senktide 投与群では 4 頭のうち 3 頭の個体でパルス状 LH 分泌が認められた (Fig. 3A)。それに対して対照群では 5 頭のうち 1 頭のみでパルス状 LH 分泌が認められた (Fig. 3A)。また、LH 分泌頻度に関しては nor-BNI 投与群では対照群と比較して有意な上昇を認めたが、senktide 投与群と対照群との間で有意差は認められなかった。LH 濃度は対照群と比較して nor-BNI、senktide 投与群ともに有意差は認められなかった (Fig. 3B)。

血漿エストロジオールおよび卵巣重量は、対照群と比較して nor-BNI 投与群において上昇している傾向を認めたが、対照群と比較して nor-BNI 投与群、senktide 投与群ともに有意差は認められなかった (Fig. 4)。

### 【考察】

本研究から、性成熟前の雌ラットに対して nor-BNI を投与することで性成熟開始時期が早まり、同時にパルス状 LH 分泌頻度を上昇させるという結果が得られた。このことは、ダイノルフィン- $\kappa$  受容体シグナル伝達が、性成熟開始前の GnRH/LH 分泌の抑制に重要な役割をしている可能性を示唆している。また、NK3 受容体アゴニストと比較して  $\kappa$  受容体アンタゴニスト投与で性成熟開始時期がより早まったという結果が得られた。このことは、GnRH パルスジェネレーターがダイノルフィン- $\kappa$  受容体シグナル伝達によって性成熟開始前の時期は抑制されており、この抑制が解除されて、さらには NKB-NK3 受容体シグナル伝達作用することで GnRH パルスジェネレーターを促進させる作用に働くことで性成熟が開始されるというメカニズムが推測される。

臨床医学的観点からは、Dyn 受容体アンタゴニストあるいは NKB 受容体アゴニストがパルス状 GnRH/LH 分泌異常を伴う疾患への治療に応用できる可能性が挙げられる。GnRH ニューロンをさらに上位から調節する KNDy ニューロンに作用する NKB 受容体アゴニストあるいは Dyn 受容体アンタゴニストは、従来の下垂体や卵巣に作用する薬剤と比較して、より生理的で副作用の少ない薬剤として使用できる可能性がある。

### 【結論】

雌ラットにおいて、ダイノルフィン- $\kappa$  受容体シグナル伝達が、性成熟開始前の GnRH-LH 分泌の抑制に重要な役割をしている可能性が示唆された。さらに、ダイノルフィン- $\kappa$  受容体シグナル伝達による抑制の解除や NKB-NK3 受容体シグナル伝達の促進が雌ラットの性成熟開始の引き金となる可能性が示唆された。このことは性成熟発来機序の解明につながるのみならず、Dyn 受容体アンタゴニストあるいは NKB 受容体アゴニストが GnRH/LH 分泌異常を伴う疾患への治療に応用できる可能性を示唆している。